RECHERCHES SUR LA DIVISION DU NOYAU CELLULAIRE CHEZ LES VÉGÉTAUX (3e Note) (1); par M. Charles DEGAGNY.

PREMIÈRE PARTIE : JUSQU'A LA DISPARITION DE LA MEMBRANE NUCLÉAIRE.

B, CHEZ LES SPIROGYRA.

(Spirogyra setiformis).

Suivant les divers auteurs qui l'ont étudié, le noyau des *Spirogyra* est décrit de façon bien différente. En Allemagne, MM. Strasburger et Flemming considèrent le réseau que l'on fait apparaître dans le noyau par les agents fixateurs comme formé, en partie, par le filament qui contiendrait une certaine quantité de nucléine disséminée, dès lors, à travers le caryoplasma. Dans ce cas le nucléole serait formé par l'autre portion de la nucléine du noyau qui se trouverait ainsi divisée entre le nucléole et le réseau. M. Zacharias croit que le nucléole ne contient pas de nucléine; qu'il est exclusivement plasmatique. M. Hertwig (*La cellule et les tissus*) semble adopter une troisième manière de voir, comme MM. Carnoy et Meunier, en Belgique. Suivant ces derniers auteurs, le nucléole contiendrait toute la nucléine du noyau. Tout le filament serait enveloppé dans le nucléole des *Spirogyra*. Le réseau, que les réactifs fixateurs font voir, entre le nucléole et la membrane nucléaire, ne contiendrait pas de nucléine et, suivant M. Hertwig, serait formé de linine. L'observation que nous allons faire du noyau du *Spirogyra setiformis* nous permettra de recueillir des notions nouvelles, et absolument différentes de celles qui ont été publiées par les auteurs précités.

Le noyau au repos du *Spirogyra setiformis* examiné à l'état vivant semble formé d'un protoplasma, ou caryoplasma homogène, dépourvu de membrane. Dans ce caryoplasma se trouve un gros nucléole, placé généralement au centre. Le noyau est maintenu

(1) Voy. le Bulletin, séance de décembre 1894; id. séance d'avril 1895.

par des cordons qui le tirent dans le sens du grand axe cellulaire. Il est rond ou ovale, en coupe optique, et il a de 15 à 20 μ de diamètre. Quand il a été fixé par des moyens convenables, le noyau a un tout autre aspect. Pour le fixer, je le plonge vingt-quatre heures dans le liquide faible de Flemming; je le lave, je l'imbibe de glycérine en quatre ou cinq jours au moins, à l'aide d'une solution aqueuse de glycérine au trentième. Je le colore en le montant dans un mélange de glycérine, un tiers; eau, deux tiers; quelques gouttes d'une solution violet foncé de vert de méthyle et de fuchsine acide étant ajoutées en plus ou moins grande quantité, après essais. Si l'Algue a été cultivée dans un milieu peu riche en matières azotées, le caryoplasma contient un réseau bien distinct, que l'on voit avec une netteté remarquable, quand le noyau acquiert parfois une dimension plus considérable, quand il s'hypertrophie, pourrait-on dire : ce que l'on constate en faisant des recherches suffisantes. Dans ces conditions, il devient évident qu'un réseau préexistant à l'action des réactifs, traverse le caryoplasma, dont les matières plasmiques dissoutes pendant la vie du noyau se précipitent à la fixation en se collant, en partie, à la surface du réseau, ou entre ses mailles. Quelle est la nature de ce réseau décrit par M. Meunier, quelle est sa destinée pendant la division, nous le verrons tout à l'heure, et nous arriverons à nous faire une idée plus nette de sa nature en l'observant sur des noyaux fixés dans des conditions identiques, par des moyens très simples qui donnent de fort bons résultats, qu'en l'observant à l'aide d'autres réactifs comme l'a fait M. Meunier, surtout en crevant le noyau vivant, et en mettant brusquement ses diverses parties non fixées en présence de liquides qui les modifient profondément. Pour s'en convaincre, on n'a qu'à placer le noyau vivant, sans le crever, dans les mêmes liquides employés comme fixateurs.

Le réseau nucléaire n'est pas toujours visible. Dans le plus grand nombre de cas, le caryoplasma est chargé d'une grande quantité de matières plasmiques qui prennent la forme de granulations sur le noyau fixé et qui sont tellement abondantes qu'elles cachent le réseau. Il est facile d'obtenir des échantillons dans ces conditions en cultivant l'Algue dans une eau additionnée de nitrates en petites quantités, surtout de nitrate de chaux. Pour

se faire une idée de la nature du réseau et de celle du nucléole, il faut suivre d'abord les phases de la division sur les noyaux peu riches en granulations, comme nous allons le faire tout d'abord.

Lorsque le noyau commence à gonfler, il faut le fixer par les procédés indiqués, puis continuer à fixer des noyaux pendant toutes les autres phases de la division, comme nous l'avons fait pour le *Spirogyra crassa*. Quand le noyau gonfle, le réseau commence à se pelotonner, et ses replis entrent dans le nucléole. N'y a-t-il pas là un accident de préparation, un effet occasionné par le liquide fixateur? Nous allons voir qu'il n'en est rien. A mesure que le réseau se pelotonne, qu'il se concentre dans le nucléole, celui-ci devient moins visible; ses contours s'effacent; il enduit le réseau, et, à mesure qu'il l'enduit, le nucléole se rompt en fragments que nous retrouverons tout à l'heure dans le noyau à granulations plus nombreuses, et à la même phase. Ce qui nous permettra de juger de ce qui se passe alors. Sur le noyau vivant, à cette époque, le nucléole commence à devenir indistinct, à mesure que le caryoplasma devient plus dense. Mais, en l'observant avec attention, surtout dans le cas où l'on regarde un noyau à caryoplasma moins dense, cultivé dans l'eau de pluie, peu riche en matières nutritives, on peut suivre plus facilement encore que chez le *Spirogyra crassa*, les évolutions du filament en voie successive de pelotonnement et d'extension. Quand le filament se pelotonne, on voit dans le noyau vivant un corps rond qui ressemble au nucléole, mais beaucoup moins brillant, ne possédant plus cet aspect homogène que le nucléole offre avant la division. Quand le filament se développe, quand ses replis se repoussent, qu'ils repoussent, comme nous le verrons, les parties du nucléole qui ne sont pas encore incorporées à lui, on voit moins ses mouvements dans le noyau vivant. Dans les noyaux fixés aux mêmes époques, et dans tous les cas, que le noyau soit riche en granulations ou qu'il en contienne moins, on trouve la raison de ce qui s'est passé. Il arrive un moment où le réseau n'existe plus dans la cavité nucléaire, où il est complètement pelotonné. Ses replis se pressent les uns contre les autres et se pressent assez pour faire sortir à la périphérie du peloton une matière homogène faisant saillie sous forme de grosse goutte. Cette matière homogène est colorée en rouge comme l'ancien nucléole. Le filament pelotonné est manifestement coloré d'une autre façon. Sur mes préparations faites depuis deux ans dans de la gly-

cérine colorée comme je l'ai indiqué, on peut encore avec un simple objectif à immersion dans l'eau, à plus forte raison avec un homogène, voir les couleurs différentes du réseau ou, pour mieux dire, du filament pelotonné et des parties de nucléole qui restent en contact avec ledit filament. Le filament est coloré en bleu verdâtre par le vert de méthyle. Nous voici donc en présence d'un fait bien manifeste recueilli sur un noyau fixé dans de bonnes conditions, et beaucoup plus sûrement que quand le noyau se rompt dans un liquide que l'on ne peut pas considérer comme un fixateur fidèle. Nous trouvons dans ce noyau, entouré de sa membrane, deux éléments distincts, colorés différemment, amenés en contact progressif, réagissant visiblement l'un sur l'autre comme nous allons le voir plus complètement : le filament étendu tout d'abord à travers tout le noyau, en voie de pelotonnement progressif dont les intermittences sont séparées par des périodes de répulsion, à mesure que le nucléole enduit le filament et s'y incorpore. Puis arrive le pelotonnement définitif qui aboutit à la formation de la plaque. Jusque-là les anses du filament se repoussent bien encore; le peloton se mamelonne, prend un aspect tourmenté parfaitement visible chez le *Spirogyra setiformis* à l'état vivant, et bien conservé, comme on peut s'en convaincre, sur le noyau fixé. Mais, englobé dans un caryoplasma plus dense, le peloton ne peut plus se développer à travers le noyau. Lorsque le peloton s'est aplati, que ses replis se sont tassés, comme nous le verrons, pour former la plaque nucléaire, on peut s'assurer que cette plaque est formée entièrement du corps filamenteux qui existait dans tout le noyau, du filament déployé dans tout le noyau au repos. La plaque étant formée, on a encore la preuve bien nette que le nucléole proprement dit et le filament sont deux corps de composition différente, colorables en deux couleurs, comme les bâtonnets et le nucléole chez le Lis blanc à la même époque. Comprimées, au moment où le filament rassemble et tasse ses replis pour former la plaque, les parties qui restent du nucléole sortent sous forme de grosse goutte colorable en rouge par la fuchsine, tandis que la plaque est colorée en vert bleuâtre par le vert de méthyle.

Nous allons suivre maintenant, sur les noyaux riches en caryoplasma granuleux, la marche des phénomènes qui précèdent la dissolution de la membrane nucléaire, comme nous l'avons fait pour le Lis et pour le *Spirogyra crassa*.

Le noyau se gonfle et s'emplit de protoplasma granuleux. Le nucléole s'incorpore au filament, et immédiatement il est brisé, pulvérisé en fragments projetés de tous côtés dans la cavité nucléaire. La plupart du temps, les anses du filament, projetées en même temps dans le caryoplasma ambiant, ne sont pas visibles sur les noyaux fixés à cette période. Cependant elles le deviennent quelquefois. On trouve alors le filament pelotonné, bien reconnaissable avec un objectif à immersion homogène, coloré en vert. Les fragments du nucléole éparpillés autour du peloton, mais en voie de condensation, sont colorés en rouge. Le caryoplasma, fortement granuleux sur le noyau fixé, reste incolore. A cette époque, sur le noyau vivant, on voit les fragments de nucléole exécutant des mouvements de va-et-vient autour du filament pelotonné qui est beaucoup plus gros, mais plus sombre et qui se transporte à droite et à gauche dans le caryoplasma, en cherchant à se rapprocher de la membrane nucléaire dont il se trouve éloigné à mesure que le noyau grossit. Alors des matières protoplasmiques, granuleuses tout d'abord, s'amassent aux deux pôles du noyau comme chez le *Spirogyra crassa*. Même sans nous appuyer sur ce que nous avons vu sur le *Spirogyra crassa*, nous verrons qu'ici, comme chez le *Spirogyra nitida* que nous examinerons, les matières qui s'accumulent aux extrémités polaires du noyau sont formées par le caryoplasma qui sort du noyau, tout comme chez le *Spirogyra crassa* et chez le Lis. A l'époque où nous sommes arrivés, nous voyons que le noyau s'emplit de granulations plus nombreuses, qu'il se bourre d'un protoplasma granuleux identique au protoplasma qui garnit ses extrémités en dehors de la membrane nucléaire. Nous voyons, en outre, que les fragments nucléolaires projetés dans le caryoplasma, fixés dans les positions qu'ils occupaient quand le noyau a cessé de vivre, n'ont pu rejoindre le peloton et s'y coller, comme cela arrive dans les noyaux où le caryoplasma est moins granuleux, et par conséquent moins dense à l'état vivant. Dans ce dernier cas, il n'est pas possible de trouver les fragments projetés par le filament, dans la cavité nucléaire. Au moment de la fixation ils se trouvent attirés contre les anses du filament, ils s'y collent et sont moins distincts. La présence d'un caryoplasma plus riche en matières protoplasmiques nous a donc permis de faire encore la différenciation bien nette du filament et des matières homogènes du nucléole, encore assez

homogènes, assez fluides en second lieu, pour former pendant leur projection des corps sphériques, des gouttes, comme peuvent en former les substances fluides, dont la cohésion n'est pas trop élevée. Nous devons en même temps reconnaître que ces mêmes constatations ne nous permettent plus de nous faire une idée du nucléole comme celle que les auteurs précités se sont faite, en employant des réactifs différents. La dissémination si nette, que nous voyons, du nucléole, en gouttes de différentes grosseurs, ne nous permet pas de penser que le nucléole est entouré d'une membrane, que nous devrions retrouver dans le caryoplasma; nous pouvons concevoir que le nucléole, composé ici d'une matière chromatique homogène, est plus dense à sa périphérie, dans ses parties en contact avec le suc nucléaire, qu'une sorte de croûte l'enveloppe. Mais il faut reconnaître que ces parties extérieures plus denses n'empêchent pas les fragments nucléolaires de se condenser en gouttes. Leur cohésion n'est donc jamais assez considérable pour que l'on puisse considérer comme une enveloppe solide la partie externe du nucléole. Nous pouvons donc penser que les réactifs employés par les auteurs qui ont étudié le nucléole des *Spirogyra* ont déterminé à la surface du nucléole la formation d'une partie plus dense prise pour une membrane, et que ces réactifs ont agi dans le même sens que le fait le suc nucléaire, en condensant la partie extérieure des matières nucléolaires, mais d'une façon plus intense. En nous reportant aux figures de M. Meunier, dont le travail résume une partie des idées acceptées sur la division chez les *Spirogyra*, nous voyons qu'il n'a pas remarqué les dislocations du nucléole qui se réalisent chez les noyaux ronds, ni la substitution progressive du filament à la matière homogène, colorée en rouge dans mes dessins, et qu'il est facile de voir très nettement dans mes préparations.

Afin de ne pas dépasser les limites assignées à cette Note, constatons rapidement que la marche des phénomènes intra-nucléaires qui conduisent à la disparition de la membrane, à l'augmentation des rapports du filament, et par conséquent de la nucléine avec le milieu extérieur, est identique à celle que nous avons vue chez le Lis blanc, et chez le *Spirogyra crassa*, à la même époque. Les quatre figures que je donne et qui ont rapport à cette phase seraient suffisantes pour le prouver. Elles montrent qu'après s'être gonflé et bourré de caryoplasma granuleux, le noyau se déforme à un

certain moment. Sa membrane est atteinte visiblement. Le conflit entre le filament et le nucléole a cessé; ce dernier absorbé en partie, éliminé en partie au dehors vers les pôles, trahit sa présence dans le sein du peloton, où il est comprimé par moments, et d'où il sort sous forme de grosse goutte colorable en rouge. Le caryoplasma, à ce moment, est à peine granuleux; et il est aisé de constater les différences d'aspect qu'il présente, à mesure que la membrane se modifie.

Brusquement celle-ci disparaît, le noyau semble s'effondrer, phénomène remarquable sur le noyau vivant, et qu'aucun auteur n'a décrit. Il suffit de regarder les noyaux qu'a dessinés M. Meunier jusqu'au moment où la plaque est formée; la distance entre ses pôles ne varie pas. Ma préparation et mon dessin peuvent donner une idée de ce qui arrive. La fixation a peu modifié la véritable physionomie du noyau et du phénomène. Mis en rapport plus complètement avec le milieu extérieur, le filament devient moins actif. Tout ce qu'il avait gonflé, fait diffluer; tout ce qu'il avait dilaté, se contracte. Nous y reviendrons plus complètement après avoir examiné brièvement le noyau du *Spirogyra nitida*. Bornons-nous ici à constater que, quand la membrane disparaît, le caryoplasma n'est plus granuleux. Il a donc accompli les mêmes transformations que nous avons vues chez le Lis blanc et chez le *Spirogyra crassa*. Nous verrons qu'à la phase suivante, rendu homogène, en grande partie tout au moins, il forme des fils entre les pôles qui se rapprochent, comme nous les avons vus se rapprocher chez le *Spirogyra crassa*, à mesure que la plaque se forme. De son côté M. Meunier n'a pas remarqué la transformation chimique du caryoplasma. Il figure seulement l'extension mécanique du réseau par les pôles qui le tirent à eux. Il n'a pas vu la contraction du noyau et le *rapprochement des pôles* ainsi que des attaches des cordons suspenseurs; ni les auteurs allemands non plus; c'est l'un des phénomènes les plus remarquables de la division. Comme nous le verrons, il est le prélude de la segmentation de la plaque.

Dans mes deux premières Notes, j'ai fait connaître surtout deux faits nouveaux : la formation des fils achromatiques aux dépens du caryoplasma chez le Lis; la sortie du caryoplasma du noyau chez le *Spirogyra crassa*. Ma troisième Note est plus spécialement destinée à mettre complètement en évidence, sur un noyau avan-

tageux, les indices de l'activité propre du filament : activité trahie à l'extérieur sur le filament vivant par les mouvements parfaitement visibles de ses anses ; et sur le noyau fixé par les formes variées, mamelonnées, que le peloton conserve, et qui montrent les changements qu'il éprouvait pendant la vie de la plante. Les modifications si nettes du nucléole montrent, d'un autre côté, à quel moment le filament augmente son activité. Celle-ci débute bien avant toute modification du caryoplasma ; à plus forte raison avant que l'on puisse surprendre le moindre changement dans la constitution de la membrane nucléaire. Cette activité du filament, qui ne fait que croître pendant que le caryoplasma s'épaissit autour de lui, et empêche ses replis, enduits, épaissis par les matières nucléolaires, de se déployer, a complètement échappé à l'observation. Cependant elle est mise hors de doute par les mouvements que l'on remarque dans le noyau vivant, aussi bien sur le *Spirogyra crassa* que sur les *Spirogyra setiformis* et *nitida* : mouvements dont on reconnaît aisément l'origine et la cause quand on a le soin de fixer le noyau au moment où on les voit se produire dans le noyau vivant. On reconnaît alors, à n'en pouvoir douter, que ce sont bien les anses du filament, que ce sont bien les débris et fragments de nucléole que l'on a vus remuer à l'état vivant. *On acquiert ainsi la preuve directe que le filament entre en activité dès le début des phénomènes de la division, avant toute modification de la membrane nucléaire.* Nous verrons bientôt jusqu'à quel point cette modification de la membrane apporte de changement dans l'activité du filament, et par suite dans la constitution des matières qui l'environnent.

M. Van Tieghem fait à la Société la communication suivante :